

氏 名	山 本 拓 郎
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 4992 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項
学 位 論 文 名	Acute Physical Stress Elevates Mouse <i>Period1</i> mRNA Expression in Mouse Peripheral Tissues via a Glucocorticoid-responsive Element (一過性拘束ストレス負荷によるグルコルチコイド応答配列を介したマウス末梢臓器 <i>Period1</i> mRNA の発現上昇)
論文審査委員	主 査 教 授 岩 井 一 宏 副 査 教 授 森 田 隆 副 査 教 授 内 匠 透

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】哺乳類において、体内時計とストレス反応性は共に視床下部を中枢とした外的環境への適応に関与しているが、それらの分子的相互作用の詳細は未知の部分が多い。

今回、ヒトの血清中グルコルチコイド量が概日リズムを示すこと、ストレスによりコルチコステロンが上昇すること、コルチコステロンを腹腔注射することにより概日リズムがリセットされるという3つの観点から、マウスに対して一過性の拘束ストレスを与える事によって体内時計に変化が見られるのではと考え、その分子メカニズムを明らかにすることを試みた。

【方法】1時間の拘束ストレスを負荷した群とコントロール群に対して、行動リズム解析及び末梢臓器における11種類の時計遺伝子発現のリアルタイムRT-PCR解析を行った。また、コンピュータ解析によりPer1プロモーター上のグルコルチコイド応答配列(GRE)を同定した後、NIH3T3細胞と肝臓を用いたクロマチン免疫沈降アッセイ(ChIP)を含むPer1プロモーターの機能解析を行った。さらにコルチコステロン投与による肝臓でのPer1発現解析を行った。

【結果】ストレスを与えても個体レベルでの行動リズムや分子概日時計そのものは安定していたにも関わらず、ストレスを与えた直後の末梢臓器ではPer1mRNAの上昇が見られた。またPer1プロモーターの機能解析から、この一過性の拘束ストレスによる転写促進にはプロモーター領域にあるGREが必須であることが明らかとなった。

【結論】Per1がストレスマーカーになる可能性に加え、既知の転写制御である振動転写制御のBmal1/Clock/E-box経路や光反応制御のCREBP (cAMP responsive element-binding protein) /CRE経路とは異なる新規の転写制御機構の存在が示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

哺乳類は体内で24時間周期の概日リズムを刻むことが知られ、体内時計と呼ばれている。体内時計とストレス反応性は共に視床下部を中枢とした外的環境への適応に関与しているが、それらの分子的相互作用の詳細には未知の部分が多い。これまでにヒトの血清中グルコルチコイド量が概日リズムを示すこと、ストレスによりコルチコステロンが上昇すること、コルチコステロンを腹腔注射することにより概日リズムがリセットされることが報告されていたので、ストレスの概日リズムに及ぼす影響を検索すべく、マウスを用いて一過性の拘束ストレスが体内時計に与える影響を以下の方法を用いて検索した。

1時間の拘束ストレスを負荷した群とコントロール群に対して、行動リズム解析及び末梢臓器における11種類の時計遺伝子発現のリアルタイムRT-PCR解析を行った。また、コンピュータ解析によりPer1プロモーター上のグルコルチコイド応答配列 (GRE) を同定した後、NIH3T3細胞と肝臓を用いたクロマチン免疫沈降アッセイ (ChIP) を含むPer1プロモーターの機能解析を行った。さらにコルチコステロン投与による肝臓でのPer1発現解析を行った。

一過性の拘束ストレスを与えても個体レベルでの行動リズムや分子概日時計そのものには変化は認められなかったが、ストレスを与えた直後の末梢臓器ではPer1mRNAの上昇が見られた。またPer1プロモーターの機能解析から、この一過性の拘束ストレスによる転写促進にはプロモーター領域にあるGREが必須であることから、グルコルチコイドがGREを介して直接概日リズムに影響を及ぼす可能性があることが明らかとなった。

本研究はPer1がストレスマーカーになる可能性に加え、概日リズム形成に関わる既知の転写制御である振動転写制御のBmal1-Clock/E-box経路や光反応制御のCREBP (cAMP responsive element-binding protein) /CRE経路とは異なる新規の転写制御機構の存在を示すことで、一過性の拘束ストレスが、概日リズムへ与える影響ならびに時計遺伝子の発現制御に関与する分子機構の一端を解明した。このことは、過度のストレスによる睡眠障害など、ストレスによる体内時計の関連が示唆される各種疾患の分子レベルでの原因解明へ向けた医学・生物学研究への重要な知見である。よって、本研究者は博士 (医学) の学位を授与されるに値するものと認められた。